

Title	Fluorescence in situ hybridization法癌細胞診断が補助診断として有用であった浸潤性腎盂癌の1例
Author(s)	杉本, 浩造; 中川, 修一; 三神, 一哉; 野本, 剛史; 浦野, 俊一; 中村, 晃和; 中西, 弘之; 渡辺, 決; 稲澤, 譲治; 阿部, 達生
Citation	泌尿器科紀要 (1997), 43(11): 785-789
Issue Date	1997-11
URL	http://hdl.handle.net/2433/116069
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

Fluorescence *in situ* hybridization 法癌細胞診断が 補助診断として有用であった浸潤性腎盂癌の1例

京都府立医科大学泌尿器科学教室 (主任: 渡辺 決教授)
杉本 浩造, 中川 修一, 三神 一哉, 野本 剛史
浦野 俊一, 中村 晃和, 中西 弘之, 渡辺 決

京都府立医科大学衛生学教室 (主任: 阿部達生教授)
稲澤 譲治, 阿部 達生

A CASE OF INVASIVE RENAL PELVIC CANCER: USEFULNESS OF AUXILIARY DIAGNOSIS USING FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION

Kozo SUGIMOTO, Shuichi NAKAGAWA, Kazuya MIKAMI, Takeshi NOMOTO
Shun-ichi URANO, Terukazu NAKAMURA, Hiroyuki NAKANISHI and Hiroki WATANABE
From the Department of Urology, Kyoto Prefectural University of Medicine
Jouji INAZAWA and Tatsuo ABE
From the Department of Hygiene, Kyoto Prefectural University of Medicine

A 65-year-old man, on whom transurethral resection had been performed twice for bladder cancer in the past, was admitted to our hospital for further Class V urinary cytology examination. A low density area of 1.5 cm in diameter in the left renal pelvis without enhancement was the only abnormal sign on computed tomographic (CT) imaging. Malignant cells were not detected by random biopsy of the urinary bladder. The retrograde pyelogram showed no filling defect on the left renal pelvis or ureter. The cytological diagnosis of the right split renal urine was Class III, and that of the left split renal urine was Class V. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) analysis, using specific probes for chromosome 8q21.3 and the centromere chromosome 11, was performed on cells from the bilateral split renal urine. Cells collected from the right split renal urine showed a normal disomic pattern, while those from the left split renal urine included an aneusomic pattern with polysomy. Left total nephroureterectomy was carried out. Histopathology proved invasive renal pelvic cancer. Thus FISH analysis may be useful for the localization of renal pelvic or ureteral cancers, which are difficult to diagnose.

(Acta Urol. Jpn. 43 : 785-789, 1997)

Key words: Invasive renal pelvic cancer, FISH, Cytological diagnosis

緒 言

腎盂癌の中でも、腫瘍が浸潤型を示す場合や carcinoma *in situ* の場合には局在診断が困難なため、手術適応の決定には苦慮することが多い。今回浸潤性腎盂癌症例の尿中脱落細胞をサンプルに fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法¹⁻³⁾を行い、補助診断法として有用であったので、報告する。

症 例

患者: 65歳, 男性
主訴: 肉眼的血尿
既往歴: B型肝炎, 前立腺肥大症。
現病歴: 1994年7月に左尿管口外側に直径3mm

大の膀胱癌 (TCC, G1) を認めたため、8月17日 transurethral resection of the bladder tumor (TUR-Bt) を施行した。その後、外来にて経過観察していたが、尿細胞診は class III が持続していた。1995年5月の膀胱鏡で左側壁に直径3mm大の膀胱癌 (TCC, G1-2) を認めたため、5月19日 TUR-Bt を施行した。術後再発予防の目的で Pirarubicin の膀胱内注入療法を2週間に1度の間隔で開始した。11月に尿細胞診が class IV となったが、膀胱鏡では明らかな腫瘍の再発を認めず、DIP でも上部尿路には明らかな異常はなかった。1996年1月には尿細胞診が class V となり、1月26日には肉眼的血尿が出現したため、精査目的のために入院となった。

CT では左腎盂に enhance されない直径1.5cm大

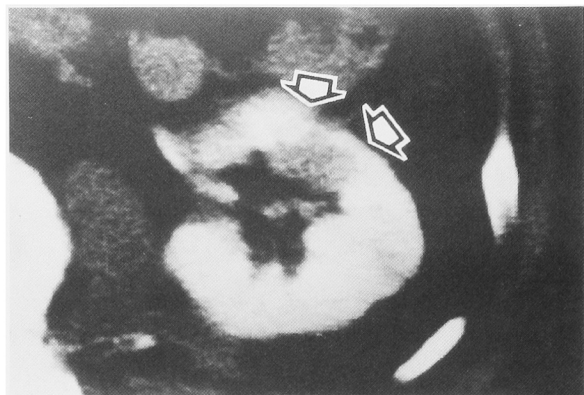


Fig. 1. CT image showed a low density area of 1.5 cm in diameter without enhancement on the left renal pelvis. It was difficult to distinguish between renal pelvic cancer and parapelvic cyst.



Fig. 2. The retrograde pyelogram showed no filling defect in the left renal pelvis and ureter. The star mark shows the portion of the mass detected by CT image.

の low density area を認めたが, parapelvic cyst との鑑別は困難であった (Fig. 1). 経腹的超音波断層法や MRI では腫瘍像は認めなかった. また膀胱内無作為生検を施行したが, 異常所見は認めなかった.

逆行性腎盂造影では左腎盂の進展性が不良であったが, 明らかな陰影欠損像は認めなかった (Fig. 2). また尿管も通過障害や陰影欠損像は認めなかった. 同時に採取した両側分腎尿を, 遠沈を繰り返して尿中脱落細胞を回収した後, 2 分して尿細胞診と FISH 法に供した.

右側の分腎尿の細胞診の所見ではクロマチン量の増

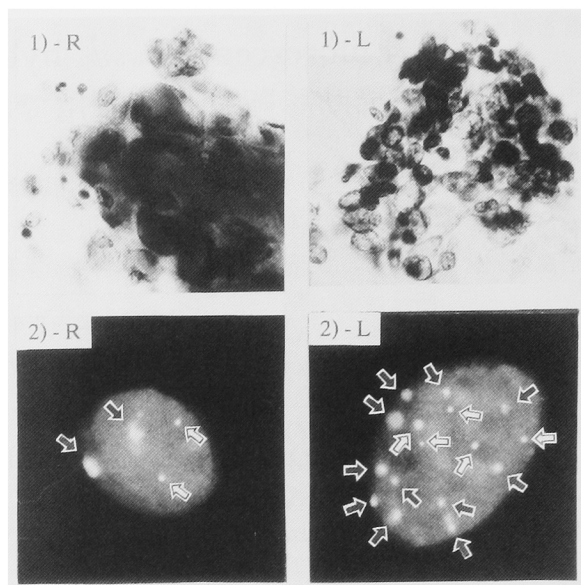


Fig. 3. 1)-R: Cells collected from the right split renal urine were of Class III in cytology. The cell construction was preserved, but the cells had increased chromatin. The nuclei included prominent nucleoli. 1)-L: Cells in the left split renal urine were of Class V. The cells had uneven hyperchromatic and pleomorphic nuclei, with an irregular outline (Papanicolaou stain, $\times 400$).

2)-R: FISH analysis was performed on cells collected from the right split renal urine. Fluorescence-microscopy showed the chromosome 8q stained red by rodamine (white arrow) and the centromere of chromosome 11 stained green by avidin-FITC (black arrow). The cells from the right split renal urine showed a normal disomic pattern. 2)-L: Cells collected from the left split renal urine showed an aneusomic pattern with polysomy of 8q and 11 cen ($\times 1,000$).

加はみられず, 細胞間の結合性が保たれているものの, 核小体が目立ち, 核形不整ならびにその大小不同が認められ, 診断は class III であった (Fig. 3-1)-R). 一方, 左分腎尿の細胞診では散在性または集合性に atypical cell を認め, 細胞核の大小不同や不整クロマチン量の増加・核小体の増大を認め, 診断は class V であった (Fig. 3-1)-L).

FISH 法は既法に従って行った¹⁻³⁾. すなわち, 尿中脱落細胞を酢酸メタノール (3:1) で固定し, 間期細胞核標本を作成した. プローブは 8 番染色体の長腕 (8q 21.3) に特異的な CI8-5335 と 11 番染色体のセントロメア (11 cen) に特異的な cCR11 の 2 つを用いた. 各プローブはニックトランスレーション法により CI8-5335 を digoxigenin (DIG) 11-dUTP で, cCR11 を biotin 16-dUTP で, 標識した. これらの

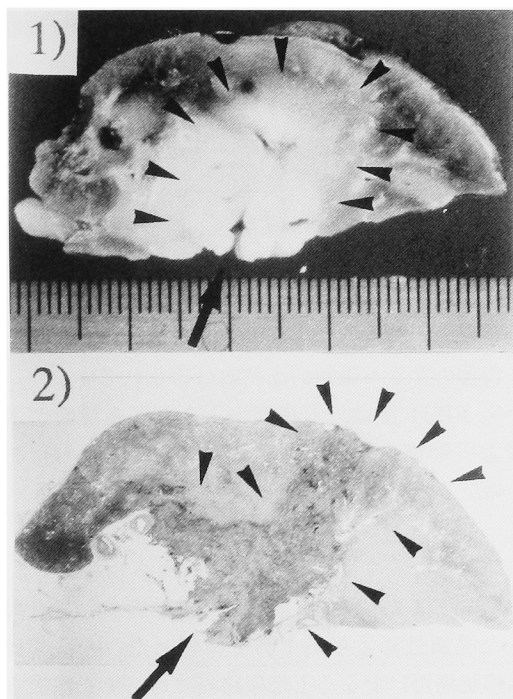


Fig. 4. 1) A transversal cut surface of the resected kidney. 2) the H.E. staining. Tumor invaded from the renal pelvis to the renal capsule. The large arrow shows the mucosa of the renal pelvis, while small arrow heads show the infiltration of the tumor.

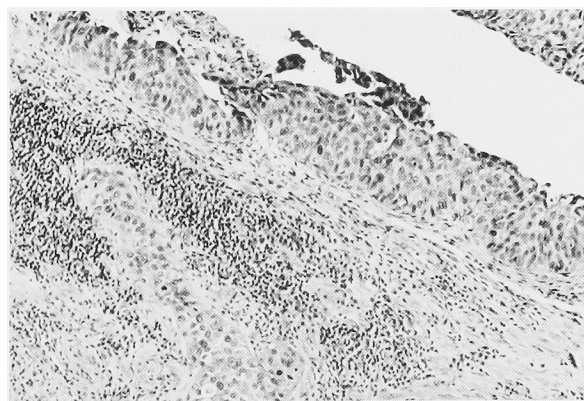


Fig. 5. Microscopic findings: Transitional cell carcinoma had invaded into the renal parenchyma. Atypical cells were observed in the renal pelvic mucosa (H.E. stain, $\times 400$).

DNA 変性後のプローブと標本核 DNA を約16時間程度ハイブリダイズさせた。DIG 標識プローブ (C18-5335) はローダミン抗 DIG 抗体 (赤色) で、ビオチン標識プローブ (cCR11) はアビジン-FITC (緑色) で検出し、マルチバンドパスフィルタを装着した蛍光顕微鏡を用いて観察した。

右分腎尿より得た細胞標本では190個の細胞を観察し、すべての核で赤色シグナル2個：緑色シグナル2個 (2:2) の正常な disomic パターンを呈した (Fig.

3-2)-R)。一方、左分腎尿より回収した細胞核の標本では223個の細胞を観察し、8q:11 cen が2:2のシグナルパターンの核は39%、3:4は30%、6:7は5%、さらにその他の異常パターンを呈する核は26%であった。すなわち8番染色体長腕過剰 (8q multiplication) と11番染色体の過剰 (polysomy) を61%もの細胞に認めた (Fig. 3-2)-L)。

以上の結果から、浸潤性腎盂癌もしくは carcinoma *in situ* が左側に存在し、右側の上部尿路には腫瘍性病変はない可能性が強く示唆された。

画像診断・病理細胞診を根拠に、さらに FISH 法染色体異常診断を参考に、患者は左腎盂癌と診断し、3月8日左腎尿管全摘除術を施行した。摘出した左腎盂および腎杯の粘膜には、肉眼的には術前検査と同様に腎盂内腔に突出する隆起性腫瘍は認めなかったが、CT で low density area を認めた部位に一致して硬結を触知した。横断面では腫瘍は腎盂粘膜から腎実質に向かい浸潤性に成長していた (Fig. 4-1))。HE 染色による病理組織診では腫瘍は腎被膜に達していたが (Fig. 4-2))、腎周囲脂肪組織には浸潤しておらず、病理組織学的診断では TCC, pT3N0M0, G2>3, L (-), V (+) と診断した (Fig. 5)。

現在まで21カ月経過するが、再発は認めていない。

考 察

腎盂尿管癌の予後は5年生存率が39.5%と、もともと悪いが⁴⁾、浸潤性腎盂尿管癌はさらに予後不良であることが知られている^{5,6)}。浸潤性腎盂癌では、広基性に発育増殖する膀胱癌と同様に、腫瘍が小さい時期に症状を呈することは稀であり、壊死や潰瘍のできる時期になり初めて血尿をきたし、これを契機に発見されることが多い⁷⁾。しかしこの時点ではすでに病期は進行しており⁷⁾、血行性転移を伴う頻度も高く⁵⁾、その結果、予後も不良になる。このような予後の悪い浸潤性腎盂癌では、画像上明らかな腫瘍形態をとる前に他の診断法で診断を確定し、できるだけ早期に手術することが望まれる。

しかしながら、浸潤性腎盂癌や carcinoma *in situ* では存在診断そのものが困難であり、これが手術適応の決定を遅らせる原因となりうる。今回の症例でも、左分腎尿は class V であったが、画像診断では CT で左腎に parapelvic cyst との鑑別が困難な直径 1.5 cm 大の low density area を認めるのみであり、また右分腎尿も class III であったことが、手術適応の決定を迷わせた。

尿路腫瘍の尿細胞診において class III が出現する頻度は34~45.6%と他臓器のそれに比べて高く⁸⁾、逆に腎盂尿管癌の尿細胞診の陽性率は、当教室の成績で57.9%と低い⁴⁾。この腎盂尿管癌の尿細胞診の正診率

が低い理由としては、癌細胞が技術的に十分採取できないことや、積極的な洗浄ないしブラッシングによる擦過が困難であることなどが挙げられている⁹⁾

一般に自然尿を用いた細胞診では、腫瘍形態が非乳頭状で細胞が high grade の腫瘍では構成細胞の相互の結合性が弱いために尿中への癌細胞の脱落が多く、診断も容易となる。しかし、乳頭状で low grade の腫瘍では、構成細胞の相互の結合性が強いいため、尿中への脱落細胞が少なく、診断は比較的難しい^{9,10)}。これに対してカテテル尿や洗浄液を用いた細胞診は、尿中への脱落が少ない low grade の腫瘍においても十分量の細胞を得られることが多く^{9,10)}、自然尿を用いる場合に比べてその診断の信頼性は高いと考えられている¹⁰⁾。しかしカテテル操作は、物理的に粘膜上皮を剥ぎ取ることも稀ではなく、その結果正常の上皮細胞集塊が出現し、これと、構成細胞の相互結合性の高い low grade の乳頭状癌の細胞集塊との鑑別が問題となる⁹⁾

今回用いた FISH 法はすでに確立された方法^{1,2)}で、クローン化された DNA プローブを化学標識し、DNA/DNA 雑種形成部位を蛍光シグナルとして検出するものである。最近では、染色体標本を得にくい固形腫瘍に対しても FISH 法を用いた解析が盛んに行われるようになってきた¹⁾。さらに、数種類のプローブの雑種シグナルを同時に異なった蛍光色で検出できる multicolor FISH も可能となり、テロメア セントロメアのシグナルを同一細胞で同時にカウントすることができる double target FISH 法は、癌抑制遺伝子が大きくかかわっている可能性の高い染色体のテロメア領域の欠失 増加を、視覚的に容易に判定することが可能な方法である²⁾

FISH 法は癌細胞に生じた染色体異常をシグナルの数で捉えるのであるから、客観的であり診断結果にばらつきが生じない¹¹⁾。また分裂細胞の染色体だけでなく、分裂間期核においても特異的シグナルを検出できるため、細胞数が少なくても問題はない¹¹⁾。この点においても、FISH 法は腎盂尿管癌の存在診断に適していると考えられる。

今回の症例では、膀胱癌において尿中脱落細胞を用いてその有用性がすでに確認されている 11 cen と 8q に対するプローブを用いた^{3,11)}。これまで膀胱癌33例に対して FISH 法と尿細胞診の陽性率を検討した結果では、FISH 法の sensitivity が97%であったのに対して、尿細胞診では class IV 以上を陽性とした場合の sensitivity は21%に過ぎなかった¹²⁾。このことから、FISH 法は存在診断だけでなくスクリーニング法としても有用であると考えられる。

本症例では、膀胱内に腫瘍性病変や carcinoma *in situ* は認めず、また膀胱造影でも VUR はなかった

が、FISH 法を上部尿路検索に用いる場合は、膀胱内腫瘍の有無、VUR の有無などに注意を要するであろう。

Meloni ら¹³⁾は、膀胱癌25症例から得た27検体に対して7から11染色体および性染色体に対するプローブを用いて FISH 法を行った結果、染色体異常の数と腫瘍の浸潤度との間に関連があったとしている。しかし、染色体異常の部位や数値異常の程度が尿路上皮腫瘍においてどのような臨床的意味を持つのかについては、現在のところ確定的な結論は得られていない。

今後 FISH 法は、本症例のような存在診断が困難な腎盂尿管癌や、尿管狭窄を有する症例などにおいて、幅広く応用されると予想された。

結 語

FISH 法による癌細胞診断が補助診断として有用であった浸潤性腎盂癌の1例を報告した。今後 FISH 法は膀胱癌だけでなく上部尿路癌に対しても幅広く利用されるであろう。

尿細胞診についてご助言いただいた国立舞鶴病院病理検査室 田原義孝先生に感謝する。

文 献

- 1) Inazawa J, Ariyama T and Abe T: Physical ordering of three polymorphic DNA markers spanning the regions containing a tumor suppressor gene of renal cell carcinoma by three-color fluorescent *in situ* hybridization. *Jpn J Cancer Res* **83**: 1248-1252, 1992
- 2) Inazawa J, Ariyama T, Tanigami A, et al.: High resolution ordering of DNA markers by multi-color fluorescent *in situ* hybridization of prophase chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* **65**: 130-135, 1994
- 3) 浦野俊一: 尿中脱落細胞を用いた FISH 法による膀胱癌診断, 臨床 FISH プロトコル. 阿部達生, 稲澤譲治編. 第1版, pp. 169-171, 秀潤社, 東京, 1997
- 4) 戎井浩二, 中川修一, 高田 仁, ほか: 腎盂尿管腫瘍の臨床統計的検討. 泌尿紀要 **40**: 201-208, 1994
- 5) 松崎 理, 五十嵐辰男: 腎浸潤性移行上皮癌, 取扱い規約に沿った腫瘍鑑別診断アトラス—腎臓— 藍沢茂雄, 清水興一, 里見佳昭編. 第1版, pp. 81-85, 文光堂, 東京, 1994
- 6) Droller MJ: Transitional cell cancer: upper tracts and bladder. In: Campbell's Urology. Edited by Walsh PC, Gittes RF, Perlmutter AD, et al. 5th ed., pp. 1343-1440, W.B. Saunders company, Philadelphia, 1986
- 7) 里見佳昭, 公平昭男, 中尾日出男, ほか: 膀胱扁平上皮癌 20 例の臨床統計的観察. 臨泌

- 27** : 67-72, 1973
- 8) 淡河洋一, 滝川 浩, 香川 征, ほか : 膀胱腫瘍における尿細胞診の臨床的検討. 西日泌尿 **48** : 1797-1803, 1986
 - 9) 今田喬士 : 泌尿器の細胞診, 病理技術マニュアル 6—細胞診とその技術—. 日本病理学会編. 第1版, pp. 341-368, 医歯薬出版, 東京, 1983
 - 10) Rosenthal DL : Urologic cytology. In : Practical cytopathology. Edited by Astarita RW. 1st ed., pp. 303-323, Churchill Livingstone Inc., New York, 1990
 - 11) 稲沢譲治, 保島匡和, 浦野俊一, ほか : 癌検診の最前線 : 膀胱癌. FISH 法による膀胱腫瘍の癌細胞診断. 癌治療・今日と明日 **18** : 17-20, 1996
 - 12) 中川修一, 浦野俊一, 渡辺 決, ほか : 膀胱癌の診断と再発予測に役立つ FISH 法癌細胞診断. 日癌治療会誌 **31** : 502, 1996
 - 13) Meloni AM, Peier AM, Kingsley KL, et al. : FISH studies of urinary cells of patients with bladder cancer. Urol Oncol **1** : 234-239, 1995
- (Received on March 11, 1997)
(Accepted on July 21, 1997)